Istituto Anatomico della R. Università di Napoli

Origine e significato delle piastrine del sangue

PEL

Dott. Giuseppe Boccardi
Professore Ordinario di Anatomia microscopica

5237

Estratto dagli Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli
Anno LVII. — N. I.

NAPOLI
TIPOGR. EDITRICE TOCCO E SALVIETTI
Via Nilo, 34, p.° p.° nobile
1903.

Illustre Prof. Pio Foà
omaggio

ISTITUTO ANATOMICO DELLA R. UNIVERSITÀ DI NAPOLI

Origine e significato delle piastrine del sangue

PEL

Dott. Giuseppe Boccardi
Professore Ordinario di Anatomia microscopica

Estratto dagli Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli
Anno LVII. — N. I.

NAPOLI
TIPOGR. EDITRICE TOCCO E SALVIETTI
Via Nilo, 34, p.° p.° nobile
1903.

A

GIOVANNI ANTONELLI

CON AFFETTO REVERENTE DI DISCEPOLO

L' AUTORE.

Dopo 25 anni dalla scoperta delle piastrine, le nostre cognizioni su la natura di tali elementi sono ben poco avanzate, ciò che giustifica il prudente riserbo col quale se ne parla anche da Autori competentissimi.

Un primo progresso si è fatto senza dubbio quando si è riconosciuta la profonda differenza che intercede tra le piastrine dei mammiferi e gli elementi creduti dapprima ad esse identici nel sangue degli animali a globuli anucleati. Hayem (1878-79) aveva confusi gli uni e gli altri col nome di ematoblasti, e Bizzozero (1881) aveva indicato come piastrine degli anfibi, uccelli ecc. gli elementi fusati o clavati studiati da Hayem. Oggi tutti si accordano a riconoscere che sotto il nome di ematoblasti nella rana, negli uccelli ecc. sono stati designati elementi dì due specie diverse. Alcuni di essi infatti non contengono mai emoglobina, spesso presentano granulazioni nel citoplasma e costituiscono evidentemente una varietà di leucociti. Altri sono realmente eritrociti in via di evoluzione e meriterebbero il nome di *eritroblasti* o quello di *ematoblasti* ad essi assegnato da Hayem, se questo, però, non si prestasse ad equivoci.

Osservazioni non interamente rigorose su la vulnerabilità di tali elementi, su la partecipazione di essi alla formazione del trombo ecc. ingenerarono la confusione con le vere piastrine del sangue dei mammiferi, dovuta — come ho detto — principalmente ad Hayem e non eliminata da Bizzozero e dagli altri osservatori meno recenti.

Conosciutasi meglio la natura di tali elementi nel sangue di animali a globuli nucleati, rimaneva chiaro che le piastrine, quali le studiò principalmente Bizzozero, fossero proprie del sangue dei mammiferi e il nome ad esse assegnato dal compianto Patologo di

Torino non pregiudicava per niente il significato di esse, mentre era bene appropriato riguardo alla forma.

Taccio quì delle varie opposizioni sollevate da dîversi autori (Vlassow, Löwit ecc.) contro la esistenza effettiva di tali elementi nel sangue normale. Checchè se ne possa pensare da qualcuno, tali obiezioni furono vittoriosamente confutate da Bizzozero stesso con le sue osservazioni sulla circolazione nell'ala del pipistrello. Conferirono anche alla dimostrazione della preesistenza delle piastrine le ricerche di Sacerdotti, il quale vide le piastrine resistere all'azione dissolvente di alcuni veleni su' globuli rossi, con che egli ritenne non potersi sostenere che le piastrine fossero fatte di sostanza (globulina?) fuoriuscita da' globuli rossi per alterazione di questi.

Prima Mosso e poi Petrone accennarono alla possibilità che le piastrine derivassero da un vero e proprio nucleo, che, secondo essi, esisterebbe ancora negli eritrociti circolanti. Ma Mosso, ch'io mi sappia, non ha insistito su questa opinione e Petrone la dismise assegnando a quel corpicciuolo da lui descritto nel globulo adulto il significato di un organo ferrigeno.

Un vero passo innanzi nello studio delle piastrine si deve ad Arnold (1897 Virch, Arch.) il quale sostenne che le piastrine derivassero da una sostanza *nucleoide* esistente negli eritrociti che si può studiare mediante opportuni trattamenti. Più giustamente questa dottrina è formulata da C. S. Engel, prima in un suo lavoro sullo sviluppo dei corpuscoli rossi, indi nella sua Guida alle ricerche cliniche sul sangue (2ª ed. Berlino 1902).

Engel ricorda che il globulo rosso consta di due sostanze: l'una periferica contenente l'emoglobina (Foà) l'altra centrale, di natura prevalentemente albuminosa. Il nucleo degli eritroblasti, per un processo di cariolisi, si va dissolvendo e quindi rimane nel centro del globulo soltanto la suddetta sostanza albuminosa con tracce eventuali di nucleina; mentre talvolta granulì di cromatina rimangono disseminati nel globulo. Quindi la sostanza nucleare è rappresentata nel globulo adulto dalle suddette granulazioni basofile o più ordinariamente dalla sostanza amorfa che poi costituirà le piastrine. Il globulo, sintanto che contiene questi residui nucleari, conserva una certa forma sferoidale; ma più tardi li espelle sotto forma di piastrine ed acquista la forma biconcava. D'accordo con questa interpretazione sta il fatto osservato da Engel stesso che il sangue embrio-

nale sintanto che contiene globuli rossi primordiali (metrociti della prima generazione — Engel) non presenta piastrine.

Le mie indagini sono state praticate tanto sul sangue d'individui sani, quanto su quello di parecchi anemici. Particolarmente mi è riuscito utile il sangue di un inserviente del nostro Laboratorio. Questi è un giovine assai robusto con leggerissima ipoglobulia cronica, della quale non si sarebbe mai accorto se l' esame diretto non la dimostrasse. Ha per mm.^{3} 4.410.000 globuli; all' emometro di v. Fleischl segna 82. Non ha mai sofferto malaria e non si può riconoscere in lui la sifilide. Da molti anni avevo constatato in lui una certa ricchezza di cellule eosinofile (7 °|o) molto grandi, si che ricorrevo sempre a lui quando occorreva farne la dimostrazione.

In questo individuo, ed in qualunque altro anemico da me studiato, il sangue presenta molti globuli non perfettamente maturi, cioè immessi dalla m. ossea nella circolazione un po' prima della compiuta involuzione della massa nucleare. Però non è già che tali globuli sieno veramente *nucleati* nello stretto senso della parola. I veri globuli nucleati che si riscontrano in condizioni patologiche sono ancora veri eritroblasti o quasi; cioè posseggono un nucleo più o meno distinto, ma sempre assai caratteristico, (v. innanzi). E qui mi sia permesso ricordare brevemente ciò che ho svolto in altro mio lavoro " sull'evoluzione degli eritroblasti ".

In questi elementi, quando sono differenziati, possiamo distinguere tre stadi ulteriori del loro sviluppo. Nel primo stadio il nucleo è ricco di cromatina o almeno di sostanza basofila (nucleina?) ed ha una struttura riferibile alla struttura ordinaria dei nuclei, sebbene si noti già un' imperfetta distinzione dei cromosomi, una tal quale tendenza all' omogeneizzazione della massa nucleare. Questo dato strutturale, insieme alla forte colorabilità del nucleo sono affatto caratteristici del nucleo degli eritroblasti e valgono a contrassegnare e distinguere tali elementi dagli altri della m. ossea, quando non ancora sovvengono altri criteri. Il citoplasma (*discoplasma* di Ehrlich) non è ancora policromatofilo e tanto meno ossifilo, ma è invece basofilo.

Nel 2.° stadio il nucleo s'ingrossa, perde l'aspetto quasi omogeneo e la sua cromatina rarefatta forma un reticolo a maglie assai larghe e poco nette. Ne le maglie di questa rete, in mezzo alla sostanza fondamentale compajono granulazioni ossifile (probabilmente di emoglobina) le quali passano più tardi nel citoplasma diffon-

dendosi in esso, si che questo diventa policromatofilo e più tardi ossifilo.

Nel terzo periodo il citoplasma è divenuto ossifilo; il nucleo si riduce assai di volume, scompajono le granulazioni ossifile, la cromatina si addensa in una massa quasi omogenea ove spiccano ancora alcuni nodi più colorati. A questo punto il nucleo vien considerato come picnotico, forse un po' a torto. La scissione indiretta è frequente nel primo stadio, rara nel secondo. Nel terzo stadio è ancora possibile riscontrarla, (1) ma è più comune la scissione diretta.

Così costituitosi il normoblasto, esso diventa più tardi, nella midolla ossea stessa, un eritrocita anucleato. Talvolta il nucleo è emesso appena pervenuto al terzo stadio. Quindi si osservano — raramente però — nella midolla tali nuclei liberi aventi i proprii caratteri ben manifesti e le dimensioni solite. D'ordinario tali nuclei sono preda de' macrofagi midollari, come io ho potuto dimostrare in altra occasione a questa Accademia.

Nella grandissima maggioranza dei casi invece, il nucleo, prima di essere espulso, subisce una cospicua involuzione, la quale è considerata come una *cariolisi*. Stando alle mie osservazioni ripetute, vi sono due modi diversi di tale involuzione. Talvolta si staccano dal nucleo granulazioni francamente basofili le quali, come è stato notato da Foà e da molti altri, possono in qualche caso rimanere più tardi sparse nel globulo perfettamente adulto. Più spesso si verifica una progressiva diminuzione della basofilia nucleare, senza che si riesca a scorgere la separazione di granuli cromatofili. È un processo, questo, che richiede uno stadio più accurato.

Negli stati anemici o in altre condizioni patologiche i corpuscoli nucleati possono passare nel sangue ed è questo un reperto assai frequente. Ma qui occorre fare alcune distinzioni. Fatta astrazione dai megaloblasti, possiamo trovare nel sangue:

a) Corpuscoli con nucleo cosidetto picnotico ancora assai voluminoso. È questo il reperto più conosciuto e descritto.

b) Corpuscoli con nucleo più o meno voluminoso, ma coi caratteri del secondo stadio (v. sopra). É un reperto oltremodo raro. Non trovo che alcuno l'abbia descritto e, del resto, ciò è naturale; perchè questo secondo stadio non è stato studiato, ch' io mi sappia,

---

(1) La cariocinesi in globuli il cui nucleo abbia acquistato l'aspetto picnotico si osserva - per quanto io ne ho visto - soltanto in casi patologici tanto nei normoblasti che nei megaloblasti.

da altri. Io stesso non avevo osservato tali corpuscoli nel sangue circolante sino a qualche tempo addietro, ma ho avuto poi agio di riscontrarli in qualche caso di leucemia o di anemie comuni, ma intense. É chiaro che tale reperto indica un lavorio assai più precipitoso della m. ossea o altre condizioni che facilitino immensamente l' immissione di elementi immaturi nel sangue.

c) Corpuscoli in una fase di involuzione nucleare ancora più avanzata che in *a*) quali si possono studiare, sebbene non facilmente, nella m. ossea.

Il residuo nucleare in questi corpuscoli si può ancora riconoscere con opportuna tecnica (v. innanzi) ed è debolissimamente basofilo, sicchè può sembrare assai piccolo, mentre la sua massa è ancora considerevole.

Sono questi i globuli che ho riscontrato ordinariamente nel mio inserviente ed in parecchi anemici. Insisto a dire ch'essi non meritano propriamente il nome di globuli nucleati; perchè la cromatina o la sostanza basofila di essi è ridotta a minini termini e solo alcune modalità tecniche permettono di riconoscerli. Rappresentano un semplice anello di passaggio alle forme più normali di globuli adulti col vero avanzo nucleare. Mediante la tecnica da me seguita, questo avanzo si può dimostrare facilmente in qualunque individuo, nei globuli che stanno per emetterlo.

Tecnica

Esporrò minutamente la tecnica da me seguita perchè le nozioni acquistate sono naturalmente legate ad essa e quindi occorre che si possano controllare le mie osservazioni.

Disteso lo straterello di sangue sul covrogetti, lo prosciugo *rapidamente*, e preferibilmente sopra una sorgente di calore. Questa cautela è riconosciuta generalmente utile, come ha notato anche Koch nelle sue ricerche sulla malaria. Essa è più necessaria pel mio metodo che per gli altri.

Pratico quindi la *fissazione consecutiva* (nachfixirung) mediante i vapori osmici, servendomi a tal uopo di un recipiente qualsiasi di vetro o porcellana nel quale conservo 10 - 20 cc. di miscela osmio - bicromica. Questa può servire per parecchi giorni e quando comincia ad indebolirsi vi aggiungo qualche goccia di soluzione osmica 1 °/₀. Il vetrino si fa aderire col dorso alla faccia inferiore del co-

verchio, mediante una goccia d'acqua e rimane così esposto ai vapori osmici per un tempo variabile secondo la forza della soluzione osmica, la temperatura dell'ambiente ecc. Usando una soluzione osmica 1 °|₀ o la miscela osmio - bicromica fresca, bastano 10-15 secondi per ottenere la fissazione; con soluzioni più deboli occorrono 20-40" sino ad un minuto o raramente di più. Si stacca il vetrino e si lava in acqua (anche non distillata) e a questo punto si può rendersi conto del grado di fissazione ottenuta. Se nell'agitare il vetrino non si stacca nessuna nubecola bruna, la fissazione è perfetta o anche eccessiva: se si stacca una nubecola appena sensibile, la fissazione è ancora eccellente; se invece la nubecola è rilevante, la fissazione è mancata, almeno per quanto concerne l'emoglobina; mentre i globuli bianchi e specialmente le granulazioni *a* ed *e* possono esser fissati bene.

Si passa quindi alla colorazione. Per varie ragioni accennate in altra occasione e dopo lunga esperienza, io ricorro mal volentieri alle colorazioni complesse simultanee, preferendo di gran lunga le colorazioni successive. Uso queste soluzioni:

1.°) Eosina marca A B acquosa 1 °|₀:

2.°) Bleu di metilene (preferibilmente quello medicinale di Höchst) soluzione acquosa satura, eventualmente alcalinizzata con benzoato sodico.

Se la fissazione è riuscita conveniente, senza alcun eccesso, in un minuto la colorazione all'eosina è già compiuta. Lavo molto in acqua e coloro col bleu sino ad ottenere una tinta bleu-violetta dello strato di sangue: indi lavo ancora molto a lungo (meglio in acqua corrente) con che ricomparisce una leggiera tinta rossastra. Per lo studio delle piastrine occorre che la tinta azzurra sia piuttosto intensa, o per lo meno, lo strato deve risultare di un viola cupo. Invece per lo studio generico del sangue occorre una colorazione violetta più sbiadita e bastano pochi secondi d'immersione nel bleu di metilene per ottenerla.

Se la fissazione è molto spinta o eccessiva, la colorazione con l'eosina tinge il preparato in roseo-giallastro e allora si dee continuare la colorazione ed *a caldo*, tenendo il recipientino sulla fiamma sin che se ne svolgano fumi per un mezzo minuto. Si lava, come sopra, e si colora col bleu anche a caldo per un tempo eguale: lavando poi molto accuratamente per allontare anche qualche precipitato di bleu. Finalmente si prosciuga e si monta in balsamo.

La fissazione con altri metodi chimici o fisici (calore) è assai meno opportuna o addirittura cattiva. Come si vedrà nell'appendice a titolo di controllo, però, uso spesso la fissazione con alcool ed etere o con alcool e cloroformio per due ore almeno, sino a 24.

Sopra preparati così fatti si riscontrano sempre in individui sani corpuscoli rossi aperti in vario modo che emettono masse lievemente basofile sicchè sono colorate in grigio-bluastro, talvolta sotto forma di zolle irregolari, ma assai più spesso con forma pressochè ellittica ben definita. Tali masse assai raramente si colorano in modo omogeneo, mentre d'ordinario presentano come uno strato periferico più colorato ovvero punti disseminati fortemente imbevuti. Non descrivo tutte le modalità di forma che sono assai svariate. A volte è una sola massa che esce dal globulo e si scorge nella sostanza globulare un tragitto biancastro che indica la via percorsa dalla massa in via di espulsione. A volte il globulo s'apre largamente in uno o due punti spesso opposti l'uno all'altro. In alcuni casi è una sola piastrina che esce dal globulo, in altri si distingue entro il globulo una massa in cifra 8, parte ancora contenuta nel discoplasma, parte già fuoriuscita. In altri casi il globulo emette cinque o sei piastrine disposte come elementi di uno streptococco o le proglottidi di una tenia. Le figure che accompagnano questo lavoro danno un'idea di questi aspetti diversi da me dimostrati all'Accademia. È notevole che nei preparati ben fissati e colorati non si osservano quasi mai zolle irregolari o masse informi di sostanze fuoriuscenti dai globuli come nelle figure riportate da Engel nel suo libro. Tali masse che hanno l'aspetto di una poltiglia o di una melma si riscontrano solo in preparati non bene fissati, o imperfettamente colorati. E qui devo notare che l'esame attento dei preparati lascia scorgere talvolta che si tratta di due sostanze commiste, l'una più basofila, l'altra refrattaria o quasi al colore basico, o persino ossifila. Incontra anche di scorgere blocchi informi là dove la distensione dello strato sanguigno è stata mal fatta, deformandosi i globuli.

Anche meglio si osservano tali fatti negli anemici e sopratutto in quelli che presentano una rigenerazione attiva del sangue. La basofilia delle piastrine è assai più considerevole, i contorni sono più netti e si trovano facilmente forme assai regolari con apparenza di nuclei o granuli cromatici variamente disposti. Questi reperti danno la spiegazione dell'opinione tante volte sostenuta che

le piastrine avessero un nucleo, arrivandosi a descriverne anche la scissione; mentre in realtà non ce n' è nulla (1).

Osservando i globuli che emettono piastrine, è facile constatare che essi non presentano mai la biconcavità classica o tutto al più solo un accenno di depressione da un lato solo. Questo fatto appoggia le vedute di Engel riguardanti la genesi della concavità (*Delle*) globulare: sebbene non sia agevole spiegarsi il meccanismo di tale formazione nei casi ove il globulo assume aspetti proprio bizzarri (p. es. di un canestro) nell' atto di tale espulsione. I globuli che ànno ancora in grembo la sostanza da cui deriveranno le piastrine presentano più o meno distintamente la forma di una lente biconvessa o per lo meno di un disco piatto, si colorano più intensamente e talvolta in modo poli-cromatofilo. Negli individui anemici si riesce qualche volta a dimostrare mediante la fortissima colorazione col bleu di metilene una sostanza endoglobulare lievemente basofila e quindi bluastra. Nei sani ciò riesce solo in via eccezionale e sempre, beninteso, nei preparati ottenuti con la fissazione a vapori osmici e colorati intensivamente.

Se ora confrontiamo le masse fuoriuscenti dai globuli con le piastrine libere nel sangue, è impossibile non convincersi che esse sono perfettamente identiche. A prima giunta si puo objettare che le masse suddette sono sovente ineguali, talvolta assai grandi e ciò ripugna all' opinione già formataci di una dimensione media delle piastrine.

L'esame più accurato sopra preparati ben fissati elimina quedubbio. Anzitutto è inesatto che le piastrine abbiano una dimensione media quasi costante. Chi vorrà prendersi la pena, come io ho fatto, di esaminare centinaia di preparati ottenuti da individui diversi, si convincerà facilmente che le dimensioni e la forma stessa delle piastrine presentano non lievi differenze nello stesso preparato. Le figure più antiche riportate da Hayem, Bizzozero ecc. sono

---

(1) Ripeto che io parlo sempre delle piastrine vere, cioè dei mammiferi. La divisione, diretta o indiretta, delle cosiddette piastrine degli animali a globuli nucleati è stata descritta più volte. Io l'ho vista *una volta sola* nel 1888, quando erano confuse insieme a tali elementi le vere piastrine. Credo però, in base anche ad osservazioni posteriori, che la cariocinesi in tali elementi sia sempre rarissima, e godo di vedere che osservazioni recenti in Laboratorii reputatissimi mi danno ragione; contrariamente ad altri osservatori che nell' ammettere la cariocinesi per tali elementi sono stati più facili assai.

alquanto inesatte, essendo esagerata la forma ellittica. Meglio rispondenti al vero io trovo le figure riportate da Guarnieri e Daddi (1), sebbene forse un pò *ritoccate* e per quanto sia singolare l'interpetrazione data dagli autori alle piastrine.

Il modo di comportarsi delle forme suddette verso le sostanze coloranti conferma tale identità. È noto che nei preparati di sangue disseccato, fissato e colorato variamente le piastrine assumono generalmente un tono misto, ma piuttosto sono ossifile. Però si deve ricordare che Bizzozero pel primo le ha colorate benino con un colore basico (violetto di metile) sciolto nella soluzione di NaCl. Da parecchi anni io faccio studiare ai miei allievi le piastrine mescolando, nel modo classico, una goccia di sangue ad una di soluzione osmica 1 °/₀. Fatto il miscuglio e trasportato sul portaoggetti, vi si aggiunge dopo un minuto una piccola quantità di glicerina e finalmente con un ago da microscopio vi si fa sciogliere una traccia di bleu di metilene. Il preparato può ora essere lutato e si conserva così per anni, rimanendo lievemente colorati in verdognolo gli eritrociti, in bleu i nuclei dei leucociti e con maggiore intensità le piastrine. Dunque questi elementi sono ben capaci di assumere i colori basici: essendo anche noto che nei preparati ordinarii esse possono mostrarsi talvolta lievemente basofile. Sopratutto negli individui anemici questa basofilia è accentuata.

Le mie osservazioni consentono una spiegazione di questa varia maniera di comportarsi delle piastrine rispetto ai colori acidi e basici. Esse risultano evidentemente di una massa ossifila (albumina, secondo C. S. Engel) cui è mista in proporzioni variabili una sostanza basofila, tanto più abbondante quanto meno maturo o vecchio è il globulo da cui provengono. Possiamo ora affermare che quella sostanza basofila sia nucleina e soltanto nucleina, come sospetta Engel?

Io ho voluto tentare di risolvere questo dubbio, sostituendo al bleu di metilene il verde di metile in soluzione idroalcoolica o colorando con ematossilina ferrica, previa sempre la fissazione co' vapori osmici. Ora è notevole che con questi due metodi le piastrine si colorano meno intensamente e meno schiettamente che col bleu di metilene. Per quanto dunque è lecito osservare oggi in base alle

---

(1) Guarnieri e Daddi — Sulla metamorfosi nucleinica degli eritrociti. Ricerche di fisiologia e scienze affini dedicate al Prof. Luigi Luciani al XXV anno del suo insegnamento, p. 195, 1900.

magre conoscenze attuali sulle reazioni dei costituenti citologici alle sostanti coloranti, non può dirsi che le piastrine siano ricche di nucleina, benchè certamente ne contengono alquanto, e nè meno può asserirsi che la basofilia eventuale di essa sia da riferirsi interamente alla nucleina o cromatina. Ho già accennato in altro lavoro a questo fatto che la basofilia nucleare non è in rapporto diretto assoluto col contenuto in acido nucleico o in cromatina e credo di dover insistere su questo punto.

Ma è da fare un' altra considerazione importante. É risaputo che il trattamento con l'acido osmico modifica la colorabilità degli elementi ematici rendendoli generalmente un pò basofili; tanto che gli stessi eritrociti mostrano una certa affinità pel colore basico, sebbene questa modificazione si verifichi principalmente dopo l' uso delle soluzioni osmiche anzichè dei vapori, tanto che la fissazione quale io la pratico non ostacola per nulla la colorabilità ossifila dell'emoglobina se non quando è stata eccessiva (1). Ad ogni modo dobbiamo tener conto di questo fatto per intendere come si abbia nei miei preparati una colorazione azzurra così intensa delle piastrine o del relitto nucleare in via di espulsione.

Si tenga conto poi anche di ciò che io coloro i preparati assai intensivamente col bleu di metilene. Quindi possiamo spiegarci la notevole reazione basofila delle piastrine senza esser costretti ad ammettere in esse una cospicua quantità di sostanza basofila e più specialmente di nucleina. Questa esisterà più veramente in quei granuli più fortemente colorati che spesso si riscontrano nelle piastrine.

Per le stesse ragioni io non posso considerare come veri nuclei più o meno provisti di cromatina le masse colorate in bleu che riscontransi specialmente nei globuli degli anemici e di cui ho parlato di sopra e che sono avanzi nucleari un po' più ricchi di sostanza basofila.

Sorgono ora parecchie questioni. Anzitutto v'è da domandarsi se le piastrine che escono evidentemente dai globuli sieno l'espressione di un processo normale di espulsione o se questa si verifichi solo per condizioni abnormi (meccaniche o chimiche). Bizzozero e Sacerdotti, per tacer d' altri, hanno dimostrato troppo rigorosamente, secondo mia scienza, la preesistenza delle piastrine, perchè

---

(1) Sta in fatto che nei preparati fissati con alcool e cloroformio o nel miscuglio di Nikiforoff le piastrine sono assai meno basofile o addirittura lievemente ossifile.

si possa tornare ancora a dubitarne. D'altra parte io son convinto della identità assoluta delle piastrine con le masse espulse dai globuli, convincimento che, spero, sarà diviso da tutti gli osservatori spassionati ed un pò pazienti. Le derivazione delle piastrine da relitti nucleari dei globuli adulti a me sembra un fatto assolutamente normale, sebbene restino a studiarsi le cause di questo fenomeno.

Nè voglio negare che talune condizioni fisiche o chimiche possano affrettare l'emissione delle piastrine, spiegando così le osservazioni di Löwit, Petrone ecc.

Anch'io ho osservato da molto tempo che mescolando il sangue con la formalina non diluita ed esaminando immediatamente il preparato si può scorgere una cospicua emissione di piastrine dai globuli, osservazione che mi faceva dubitare non poco della preesistenza di tali forme; ma questo dubbio cade interamente dopo le osservazioni di Engel e delle mie.

Inteso così il significato delle piastrine, possiamo agevolmente spiegarci le osservazioni coscienziose di osservatori competenti (Hayem, Fusari ecc.) sulla *crisi ematoblastica* e sopra altri fatti osservati in condizioni morbose diverse, pur dissentendo profondamente da essi circa la natura di tali masse, che non meritano più — a rigor di termini — la denominazione di elementi anatomici.

Quale sia l'ulteriore destino delle piastrine circolanti non credo possa dirsi, altro che per via d'ipotesi e queste val meglio lasciarle da parte. Avendo trovato con ogni certezza nella midolla ossea nuclei interi di eritroblasti espulsi e poi incorporati da' megacariociti, potrei sospettare che egual sorte spetti alle vere piastrine nella milza o altrove, ma preferisco attendere i risultati di ricerche dirette.

Un'ultima considerazione vorrei aggiungere. Assai spesso le piastrine si trovano già agglutinate appena fatto il preparato con liquidi indifferenti o fissatori e si cita questo fatto come dimostrazione della viscosità ed alterabilità di esse. Sovente si tratta davvero di piastrine prima libere ed isolate, che si congiungono in mucchi: ma talvolta ritengo che si tratti invece di piastrine *appena emesse* ed *ancora aderenti* in catenelle o altrimenti.

L'agglutinazione delle piastrine è un fatto bene studiato ed io non posso non ricordare a questo proposito, per analogia, ciò che ho osservato venti anni addietro studiando la fuoriuscita dei nuclei da' globuli di rana che dopo usciti tendono e raggrupparsi come fanno le piastrine. Soltanto, dopo gli studii di Eberth, Schimmel-

busch ecc. oggi non si concede generalmente molta importanza a questo fatto nel fenomeno della coagulazione sanguigna. Riserbandomi di tornare in altra occasione su' risultati delle mie osservazioni embriologiche, dirò solo che nell'embrione — analogamente a quanto afferma C. S. Engel — ho trovato assenti o scarsissime le piastrine ai primi tempi, quando cioè il sangue contiene solo *globuli nucleati grandi.* Ciò nondimeno, il sangue coagula anche in questo periodo, come ho potuto verificare più volte e ciò appoggia l'opinione già riferita sulla poca o nessuna importanza delle piastrine nella coagulazione.

Come conclusione di queste osservazioni, mi sembra che si possa stabilire quanto segue:

" Il nucleo degli eritroblasti, può essere espulso *in toto* già nella
" midolla ossea: ma più spesso va incontro ad involuzione, la quale
" concerne specialmente la cromatina o — più in generale — la parte
" basofila di esso. Capitati nel sangue, i globuli espellono prima o
" poi tale avanzo nucleare sotto forma di piastrine. Queste sono
" tanto più spoglie di sostanza basofila, quanto più avanzata è l'in-
" voluzione nucleare. Sembra che in seguito a tale emissione di pia-
" strine i globuli acquistino la forma biconcava. Non è impossibile
" che nel globulo permanga talora un piccolissimo relitto nucleare,
" che forse corrisponde al corpicciolo endoglobulare di alcuni au-
" tori: però contro questa ipotesi militano le osservazioni di Negri.
" Il sangue embrionale, sintanto che contiene globuli nucleati grandi,
" non presenta piastrine o solo pochissime, pur essendo coagula-
" bile ".

Appendice

Le granulazioni *ipoeosinofile* ed i globuli bianchi jalini.

Riassumo brevemente la comunicazione da me fatta all'Accademia nel Dicembre 1902.

Nel 1898, Grünwald (Centrablatt für inn. Med. N.° 30) descrisse alcune granulazioni nel citoplasma dei leucociti le quali si distinguerebbero per parecchi caratteri da quelle sinora riconosciute. Esse sono affini, secondo l'A. per alcuni caratteri alle granulazioni pseudoeosinofile di Ehrlich che si trovano ne'polinucleari della cavia e nel coniglio; ma se ne distinguono perchè dopo colorate si lasciano facilmente scolorare non solo dagli acidi, ma anche dagli alcali. Grünwald ammette come carattere peculiare di tali granulazioni la grande vulnerabilità, per la quale non si discernono se non dopo conveniente

fissazione (p. es. con formalina alcoolica) notando però che si possono colorare anche su preparati semplicemente disseccati all'aria.

Occupandomi da taluni anni di tali questioni, ho potuto riunire alcune osservazioni anche su questo proposito e nel 1900 feci pubblicare dal mio allievo Sig. Mariotti una nota nella quale era anche accennata la questione relativa alla incostanza delle granulazioni in alcuni leucociti. Ritorno ora più definitivamente sulla questione.

Si descrivono comunemente come *ialini* alcuni leucociti il cui citoplasma privo di granulazioni è omogeneo, risplendente: ordinariamente col nucleo polilobato. Quindi, invece di presentare le granulazioni ε ovvero quelle β, il leucocita avrebbe l'aspetto suddescritto. Anche nei linfociti si osserva talvolta, ma assai di rado, che il citoplasma, invece di presentare l'aspetto finamente reticolare (Ehrlich) o finissimamente granuloso, è omogeneo e si colora diffusamente co'colori acidi.

Dalle mie osservazioni risulta che, contro l'opinione più diffusa, gli elementi jalini non esistono come tali nel sangue se non in via affatto eccezionale e che riscontrandoli entro a' macrofagi (Dominici) o in altri stati patologici non è l'aspetto jalino che caratterizza la loro alterazione. Quando le granulazioni ε e β sono alterate, il corpuscolo presenta piuttosto una colorazione mista grigio-bluastra del citoplasma, nel quale si scorgono poche granulazioni ben colorate. L'aspetto jalino può essere invece talvolta l'effetto di un'alterazione fisica dei leucociti prodotta da imperfezioni nella manovra dello stendere lo strato di sangue sul vetrino e ciò può accadere anche ad abili osservatori, ma, come ognuno può controllare, è più frequente nelle mani meno abili ed esercitate.

Nella massima parte dei casi però, l'aspetto jalino è dovuto ad *imperfetta fissazione consecutiva*. Esso si riscontra frequente infatti fissando il preparato con alcool, etere, cloroformio o col calore: mentre è molto raro fissando co' vapori osmici. In quest'ultimo caso le granulazioni ε sono particolarmente splendide (le α assai meno) e prendono la tinta neutra solo qnando si colora in eccesso col bleu, in modo da aversi una specie di precipitato. Se la colorazione è fatta proprio bene, le stesse granulazioni ε appaiono ossifile, come ho sostenuto già da sei anni addietro. La cosiddetta colorazione neutra è piuttosto un fenomeno di precipitazione o di colorazione della sostanza intergranulare come ha sostenuto anche Pane, e come inclina a credere anche Grünberg (Virch. Arch. 1901).

E' chiaro quindi che anche le comuni granulazioni ε possono sembrare ipoeosinofile per difetto di fissazione. Ciò che mi sembra degno di nota è che le suddette granulazioni nei mielociti sono assai meno vulnerabili che nei polinucleari derivati da quelli. Segue da ciò che nella leucemia mielogena, ad es., la fissazione con alcool e cloroformio per soli 10 minuti basta a fissare le granulazioni neutrofile dei mielociti che si trovano nel sangue, mentre pei polinucleari adulti occorre prolungare la fissazione sino a due ore o 24 addirittura per iscorgerle, nè vi si riesce sempre. Ciò che ho detto pei polinucleari, vale anche pei linfociti, i quali quando sono bene fissati non presentano mai l'aspetto jalino e la colorazione ossifila del citoplasma; sebbene autori assai competenti (C. S. Engel) ne facciano parola e la riproducano nelle figure.

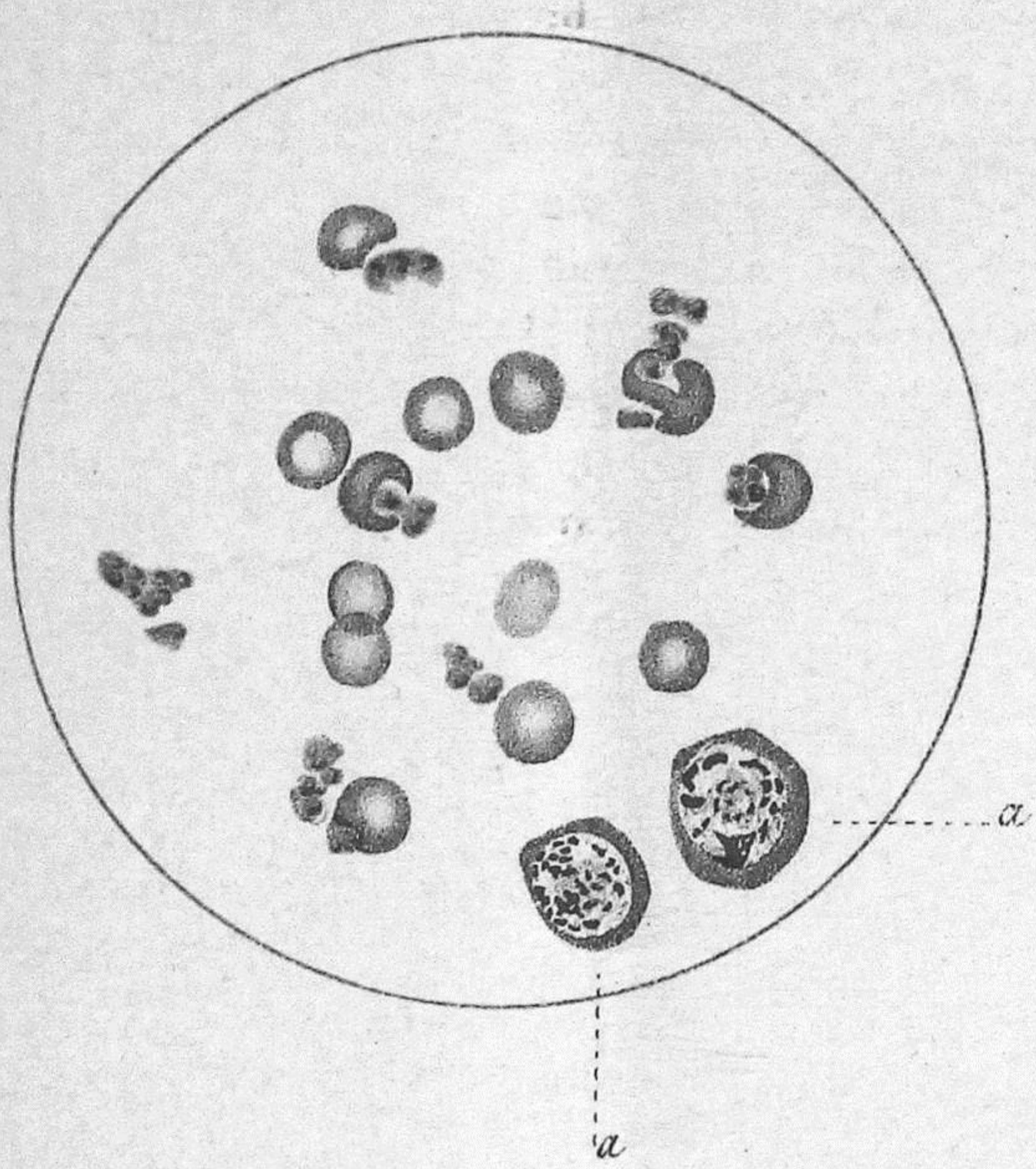
Per lo studio di tali granulazioni è superflua una fissazione eccessiva co' vapori osmici, anzi può riuscire dannosa, rendendo incolorabili le granulazioni stesse. Anche la colorazione con eosina e bleu non deve essere intensa. Basta immergere i vetrini per un minuto nell'eosina e per mezzo minuto nell'azzurro di metilene.

SPIEGAZIONE DELLA FIGURA (1)

La figura è stata ritratta da un preparato fissato con vapori osmici e colorato intensivamente. Piastrine in atto di essere espulse dai globuli o già libere.

In *a a* sono stati riprodotti, da altro preparato (di m. ossea) due eritroblasti nel secondo stadio, cioè durante la produzione di sostanza ossifila dal nucleo.

(1) Le figure, pur troppo, riproducono non molto bene i miei preparati.



St. lit. A. Serino - Napoli